

**Über die Darstellung und Charakterisierung
von Osonen und Anhydroosonen, sowie über die
Umlagerung von Osonen zu Reduktonen**

(Auszug)



Inauguraldissertation
der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich - Alexander - Universität Erlangen
ZUR ERLANGUNG DES DOKTORGRADES

vorgelegt von

HANS CHRISTIAN HEID

aus Roth bei Nürnberg

Druck: W. & H. Titze, Büchenbach ü. Roth/Nbg. 1959

Als Dissertation genehmigt von der
Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Erlangen

Tag der mündlichen Prüfung: **26. November 1958**

Dekan: Universitätsprofessor Dr. R. Fleischmann
Berichterstatter: Universitätsprofessor Dr. G. Hesse
Berichterstatter: Universitätsprofessor Dr. O. Dann

Über die Darstellung und Charakterisierung von Osonen und Anhydroosonen, sowie über die Umlagerung von Osonen zu Reduktone

Untersuchungen von G. HESSE und Mitarb. (1) über die Reizhormone der Mimose machten es wahrscheinlich, daß als wirksame Substanzen Reduktone vorliegen. Durch papierchromatographische Untersuchungen wurde die Vermutung gestützt, daß es sich um ähnliche Reduktone handelt, die H. v. EULER und A. GLASER (2) durch Alkalieinwirkung auf Inosose erhalten hatten, und von denen eines als Hexose-Reduktone angesprochen wurde. Diese Vermutung wurde der Ausgangspunkt vorliegender Arbeit. Die erfolgreiche Synthese des Triose-Reduktone aus dem Hydroxybrenztraubenaldehyd (3) legte eine analoge Synthese der Hexose-Reduktone aus den Osonen nahe, deren Darstellung und Eigenschaften daher näher untersucht wurden.

Da die Ozone bisher weder rein noch gar kristallisiert erhalten werden konnten, wurden Reinheitsprüfungen von Osonen ausgearbeitet. Für die quantitative Bestimmung wurde die Fällung mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin herangezogen, die, bei etwa 100° ausgeführt, zu reproduzierbaren Ergebnissen führte. Ein Nachteil dieser Bestimmungsmethode ist, daß durch Carbonylverunreinigungen der Ozone höhere Osongehalte vorgetäuscht werden. Spezifisch für die Ozone ist dagegen die Titration der nach der Addition von Kaliumcyanid entstehenden Ascorbinsäure und Analoga (bzw. deren Iminverbindungen) mit Jod in saurem Medium.

Um die bei der quantitativen Bestimmung der Ozone mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin entstehenden Fällungen qualitativ auf Verunreinigungen prüfen zu können, wurde eine (Verteilungs-) Papierchromatographie mit Formamid als stationärer Phase angewendet. Als mobile Phase wurden verwendet: Diäthylphthalat, Nitrobenzol, o-Nitrotoluol, s-Tetrachloräthan, Anisol, Benzol, Diisobutyläther und Cyclohexan, bzw. Gemische derselben. Mit den gleichen Systemen wurden auch Phenyllosazone und Osazone α -disubstituierter Hydrazine papierchromatographisch untersucht, sowie Osonhydrazone, die zuvor mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin zu Mischosazonen umgesetzt wurden. Die 2,4-Dinitrophenyllosazone konnten, soweit sie noch Hydroxylgruppen enthielten, in Pyridinlösung mit Essigsäureanhydrid acetyliert werden. Durch Papierchromatographie dieser Acetylderivate ließen

sich die 2,4-Dinitrophenylosazone einerseits näher und sicherer identifizieren, andererseits ließen sich in μ -Mengen acetylierbare Gruppen nachweisen.

Die von F. PETUELY (4) erstmals näher beschriebene Papierchromatographie der Osone wurde ebenfalls zu ihrer Reinheitsprüfung herangezogen. Die von F. PETUELY gefundene papierchromatographische Aufteilung der Osone wurde bei allen untersuchten Osonen (D-Fructoson, D-Galactoson, L-Sorbose, D-Xylosen und D-Erythron) gefunden, wenn mit dem Gemisch n-Butanol/Eisessig/Wasser = 4:1:1 gearbeitet wurde. Am Beispiel des D-Fructosons, das über eine Kohlesäule in 2 Fraktionen getrennt werden konnte (siehe Seite 5), wurde gefunden, daß die Maxima dem monomeren und dimeren Oson zuzuordnen sind. Ohne daß ein experimenteller Beweis geführt wurde, kann man aus dem papierchromatographischen Verhalten der übrigen untersuchten Osone entnehmen, daß in ihnen ebenfalls Gemische von Monomeren und Dimeren vorliegen. Durch zweidimensionale Papierchromatographie mit dem gleichen Lösungsmittelgemisch konnte Aufschluß über das Gleichgewicht der Osone erhalten werden. Hierbei wurde gefunden, daß eine Gleichgewichtseinstellung in Richtung des schneller wandernden (monomeren) Osons erfolgt. In den Gemischen Phenol/Wasser = 4:1 und Trichloräthanol/Eisessig/Wasser = 4:1:1 gaben die untersuchten Hexosone nur einen ovalen Fleck. Dagegen gab D-Xylosen in diesen Gemischen zwei deutlich voneinander getrennte Flecke. Als empfindlichste Sprühreagentien auf die Osone erwiesen sich Silbernitrat/Lauge, Triphenyltetrazoliumchlorid in alkalischer Lösung und 2,4-Dinitrophenylhydrazin in alkoholischer Phosphorsäure. Letzteres reagierte allerdings mit manchen Formen der Osone schlechter. Ein Vorteil der Verwendung von 2,4-Dinitrophenylhydrazin beim Besprühen der Chromatogramme war, daß die so erhaltenen Zonen getrennt eluiert und die so erhaltenen 2,4-Dinitrophenylhydrazinverbindungen erneut chromatographiert werden konnten. Erst durch diese vorhergehende Trennung oder Anreicherung der Carbonylverbindungen konnten viele Verunreinigungen der Osone als 2,4-Dinitrophenylhydrazinverbindungen nachgewiesen werden.

Nach der Salzsäuremethode von E. FISCHER (5) wurden folgende Ozone hergestellt: D-Galactoson in 25 % Ausbeute (75 % Osongehalt titriert); D-Fructoson in 31 % Ausbeute (78% Osongehalt titr.); L-Sorbose in 9 % Ausbeute (44% Osongehalt titr.) und D-Xylosen in 7 % Ausbeute (75% Osongehalt titr.). Ein Teil der Verunreinigungen konnte nachgewiesen, aber nicht identifiziert werden. In allen Osonen wurde ein Verbindungstyp gefunden, der als ein relativ säurestabiles "Dioson" anzusprechen ist.

Bei der Oxydation von Zuckern zu Osonen mit Cu(II)-acetat in Äthanol nach R. WEIDENHAGEN (6) wurde gefunden, daß die Ausbeute an Oson (titr.) mit dem Verbrauch an Oxydationsmittel zuerst ansteigt, um dann wieder abzufallen. Eine Erklärung für dieses Verhalten ist darin zu suchen, daß die Ozone die gleiche durch Cu(II)-acetat oxydierbare Gruppierung (α -Hydroxycarbonylgruppe) enthalten wie die Zucker und daher ebenfalls oxydiert werden. In den so hergestellten Osonen konnte papierchromatographisch immer das nächst niedrigere Oson (als 2,4-Dinitrophenylosazon) nachgewiesen werden. Bei der Oxydation von D-Fructoson mit Cu(II)-acetat wurde neben dem C_5 -Oson noch 2,3-Diketogluconsäurelacton und eine weitere Verbindung (gleichfalls als 2,4-Dinitrophenylhydrazinverbindung) gefunden, bei der es sich wahrscheinlich um ein 3-Ketooson handelt. Dagegen konnte ein C_5 -Zucker nicht gefunden werden. Dieses Ergebnis macht einen oxydativen Abbau der Zucker über Oson, 3-Ketooson zu 2,3-Diketoglykonsäure wahrscheinlich, wobei letztere Verbindung zu dem nächst niedrigeren Oson decarboxyliert.

Eine Abtrennung der Ozone aus dem Oxydationsgemisch von den Zuckern wurde über eine mit HSO_3^- -Ionen beladene Anionen-Austauschersäule (Amberlite IRA-400) erreicht. Diese Säule wurde von O. SAMUELSON und E. SJÖSTRÖM (7) für die Trennung von Zuckern eingesetzt. Eine Trennung von C_4 -Oson von C_4 -Zucker gelang auf diesem Wege nicht. Nach Aufgabe des Oxydationsgemisches auf die Säule wurde der Zucker mit einer 20 proz. MethanolLösung eluiert und anschließend das Oson mit einer alkoholischen Benzaldehydlösung. Ein Nachteil der Methode ist, daß die Ozone sich an der Säule langsam zersetzen. D-Xylosen und L-Sorbose wurden auf diesem Wege in einer Ausbeute von rund 25 % (bezogen auf den eingesetzten Zucker) erhalten.

Die Methode von E. FISCHER und E. ARMSTRONG (8), Osone aus den Osazonen durch Transhydrazonierung mit Benzaldehyd zu erhalten, wurde dahingehend abgewandelt, daß statt des Benzaldehyds p-Nitrobenzaldehyd oder Phenylglyoxylsäure verwendet wurde. Die auf diesem Wege hergestellten Osone enthielten Anhydroosone, die als 2,4-Dinitrophenylosazone papierchromatographisch nachgewiesen und identifiziert werden konnten. Bei der Verwendung von Osazonen von α -disubstituierten Hydrazinen konnten keine Anhydroosone nachgewiesen werden. O. DIELS und Mitarb. (9) konnten aus diesen Osazonen auch keine Anhydroosazone erhalten. Dies macht die Entstehung der Anhydroosone über die Anhydroosazone wahrscheinlich, die dann nachfolgend gespalten werden.

Da F. SMITH (10) die Reinheit der Osazone als wesentlich für die Darstellung reiner Osone annimmt und die Osazone durch ihren Schmelzpunkt wenig charakterisiert sind, wurden Acetonverbindungen der Osazone hergestellt: Diaceton-D-fructosephenylosazon ($F = 184-185^{\circ}$); Diaceton-L-sorbosephenylosazon ($F = 140-1^{\circ}$) und Monoaceton-D-xylosephenylosazon ($F = 182-3^{\circ}$). Die gelben, gut kristallisierenden Verbindungen zeigten in Pyridin/Äthanol Mutarotation. Im UV-Spektrum (gelöst in Äthanol) zeigten diese Verbindungen die gleiche Lage und Höhe der Absorptionsmaxima, wie sie für Phenyl-osazone charakteristisch sind. Die Verwendung der Acetonverbindungen von Osazonen bei Transhydrazonierungsversuchen brachte keine Verbesserung der Reinheit der daraus hergestellten Osone.

Bei der Transhydrazonierung von Anhydrophenylosazonen wurden Anhydroosone und Osone erhalten. Letztere konnten auch nach Reduktion mit Zink/Essigsäure zu den entsprechenden Ketosen papierchromatographisch identifiziert werden. Aus dem DIELS-Anhydrophenylosazon wurde so Fructose gefunden. Dagegen konnte das Reduktionsprodukt des Anhydroosons nicht mit Sicherheit als Anhydroketo-se identifiziert werden. Papierchromatographisch ließen sich die Anhydroosone von den Osonen mit Phenol/Wasser trennen. Als beste Sprühreagentien erwiesen sich 2,4-Dinitrophenylhydrazin und Silbernitrat/Lauge. Mit Triphenyltetrazoliumchlorid reagiert das Anhydrooson kaum, es reagiert ebenfalls nicht mit Kaliumcyanid zu Ascorbinsäurederivaten.

Bei der Anhydrierung von D-Xylosephenylosazon nach O. DIELS (9) wurde eine braune Masse erhalten, die über eine Formamid-Celitsäule mit Benzol fraktioniert werden konnte. Hierbei wurden zwei Anhydro-C₅-phenylosazone (als Methanolverbindungen) erhalten: Anhydroosazon I (F = 184-5°) und Anhydroosazon II (F = 170-171°). Im UV-Spektrum (gelöst in Äthanol) zeigten die aus Acetonitril umkristallisierten gelben Verbindungen die gleiche Lage und Höhe der für Phenylosazone charakteristischen Absorptionsmaxima. In Methanol wurde keine Mutarotation festgestellt. In Analogie zu den Ergebnissen von Versuchen von E. HARDEGGER und Mitarb. (11) an den Anhydrophenylosazonen von C₆-Zuckern wurde angenommen, daß bei der Anhydrierung eine teilweise WALDENsche Umkehr am C-Atom 3 eintritt. Dies und die Bildung eines 3,5-Anhydroringes erklärt auch die Entstehung eines enantiomorphen Paares von Anhydroosazonen aus dem D-Xylosephenylosazon und L-Arabinosephenylosazon, wie O. DIELS gefunden hat (9). Eine sichere Zuordnung einer bestimmten Struktur (3,5-Anhydro-D-xylosephenylosazon und 3,5-Anhydro-D-arabinosephenylosazon) zu den Anhydroosazonen I und II konnte nicht getroffen werden.

Während durch die Verwendung von Osonhydrazonen α -disubstituierter Hydrazine bei Transhydrazonierungsversuchen keine Verbesserung in der Darstellung von Osonen erzielt werden konnte, gelang es, aus dem D-Fructoson-1-phenylhydrazon durch Transhydrazonierung mit p-Nitrobenzaldehyd unter milden Bedingungen erstmals reines D-Fructoson herzustellen (Ausbeute ca. 75% der Theorie).

Eine Oxydation der primären Hydroxylgruppe der 2,3-4,5-Diisopropyliden-D-fructopyranose zur Aldehydgruppe wurde mit tert. Butylchromat erreicht. Die Trennung von nicht umgesetzter Ausgangsverbindung erfolgte durch Chromatographie über eine Aluminiumoxydsäule (neutral, Akt. Stufe III). Das Diacetonderivat des D-Fructosons wurde als Syrup erhalten. Ein kristallines Derivat wurde mit Benzylphenylhydrazin erhalten (F = 147-8°; schwach gelbliche, derbe Kristalle). Eine Hydrolyse des Diacetonosons zum Oson wurde unter milden Bedingungen nicht erreicht.

D-Fructoson ließ sich über eine Kohlesäule mit Wasser, dann verdünntem Äthanol steigenden Gehalts in Komponenten trennen,

was papierchromatographisch verfolgt wurde. Die Eluate wurden nach dem Chromatogramm vereinigt und durch Gefriertrocknung eingedampft. Es wurden so zwei Fraktionen erhalten. Durch kryoskopische Molekulargewichtsbestimmung in Wasser wurde für die Fraktion I ein Wert von 188 gefunden, für die Fraktion II ein Wert von 292. Die Abweichung des Wertes von Fraktion II vom theoretischen Wert für das dimere Oson (356, bzw. 392 für das Dihydrat) ist wahrscheinlich durch Tautomerisierung während des Versuches bedingt. Auf gleiche Weise wurde auch D-Xylosen getrennt, doch erfolgte hier die Umlagerung vom wahrscheinlich dimeren zum monomeren Oson so schnell, daß papierchromatographisch nur eine Anreicherung des dimeren Osons in den letzten Fraktionen gefunden wurde. Für die Struktur der dimeren Osone wurde ein intermolekulares Halbacetal angenommen.

Die Osone wurden als farblose, schaumige und hygroskopische Substanzen erhalten. Der beim Eindampfen von D-Fructosonlösung erhaltene Schaum hatte etwa die Zusammensetzung eines Oson-Monohydrates. Durch Trocknung bei 50° und 10^{-3} Torr (5 Stunden) konnte das Hydratwasser entfernt werden. Dieses Oson zeigte dann bei $5,7\mu$ eine Bande, die einem Ringcarbonyl zugeordnet werden muß. Für das monomere D-Fructoson wurde eine komplexe Mutarotation in Wasser gefunden, während für das dimere D-Fructoson keine charakteristische Mutarotation gefunden werden konnte. Letzteres ließ sich auch papierchromatographisch in 2 Individuen aufteilen. Nach Wochen streben monomeres und dimeres Oson einem gleichen Enddrehwert zu ($[\alpha]_D = + 1,4^{\circ}$).

W.L. EVANS (12) vermutete, daß die Osone in den Bleikomplexen als Reduktonate vorliegen. Daher wurde der Bleikomplex des Hydroxybrenztraubenaldehyds hergestellt. Da sich nach dessen Zerlegung mit Säure kein Triose-Redukton, sondern nur der Aldehyd nachweisen ließ, wurde angenommen, daß auch bei den Oson-Bleikomplexen die Vermutung von EVANS nicht zutrifft, zumal hier nach der Zerlegung der Komplexe auch nie Redukton-Reaktionen erhalten wurden.

In Fortführung der nur orientierenden Versuche von F. PETUELY (4) wurden verschiedene Osone in wässriger, 0,025 bis 0,05 n Natronlauge bei 30 und 40° zu Reduktonaten umgelagert. Nach dem

Ansäuern der alkalischen Lösungen wurden nach 3 - 40 Min. ca. 40 - 60 % Reduktone titriert (mit Jodlösung). Es wurde gefunden, daß sich die entstandenen aci-Reduktone in saurem Medium in einer Reaktion I. Ordnung in Formen umlagern, die im sauren Gebiet Jodlösung nicht mehr reduzieren. Dieses Ergebnis macht es wahrscheinlich, daß das aus dem mesomeren Endiolat-Anion nach dem Ansäuern entstehende aci-Redukton nicht beständig ist und unter Lactolisierung und Ketisierung in ein Halbacetal eines β -Dicarbonylzuckers umlagert. Durch Papierchromatographie einer umgelagerten D-Fructosonlösung wurde gefunden, daß drei Reduktone entstanden waren. Überwiegend entstand durch die Umlagerung ein Redukton mit dem R_f -Wert 0,1 (n-Butanol/Eisessig/Wasser = 4:1:1), das mit p-Aminobenzoesäure und Ti(III)-chlorid/Pyridin reagierte. Bei den anderen Reduktonen handelt es sich wahrscheinlich um Zersetzungsprodukte, evtl. aber auch um Isomere. Eine Abtrennung der Reduktone aus dem Reaktionsgemisch mit Blei(II)-acetat oder Quecksilber(II)-acetat gelang nicht. Dagegen konnten die Reduktone mit p-Aminobenzoesäure als Anile isoliert werden. Die Anile konnten auch aus Reduktonlösungen erhalten werden, die angesäuert worden waren, und in denen sich mit Jodlösung nur noch "Rest"-Reduktone (Zersetzungsprodukte?) in geringer Menge titrieren ließen. Durch Umlagerung von D-Fructoson und D-Xylosen konnten mit p-Aminobenzoesäure Monoanile in Ausbeuten von 20 bis 35 % der Theorie erhalten werden.

Das überraschende Ergebnis der Entstehung von aci-Redukton-Anilen aus Reduktonen, die im sauren Medium nicht mehr reduzieren, wurde durch den Mechanismus einer Amadori-Umlagerung erklärt. Aus dem β -Dicarbonylzucker entsteht mit p-Aminobenzoesäure das N-Aryl-Glykosid, welches dann nachfolgend eine Amadori-Umlagerung zum Monoanil erleidet. Im Gegensatz zu den Zwischenprodukten der Amadori-Umlagerung von Aldosen ist das aus dem β -Dicarbonylzucker entstehende Monoanil durch die Ausbildung einer Konjugation stabil. Die Monoanile der p-Aminobenzoesäure mit D-Xylose- und D-Fructose-Redukton zeigten eine bathochrome Verschiebung des Absorptionsmaximums gegenüber dem entsprechenden Monoanil des Triose-Reduktons: Triose-Redukton-Monoanil

$\lambda_{\text{max.}}$: 356 m μ ; D-Xylose-Redukton-Monoanil ($F = 185-8^\circ$; $MG = 264-6$) $\lambda_{\text{max.}}$: 368 m μ ; D-Fructose-Redukton-Monoanil(hydrat)

(F = 170-5°; MG 312-4) $\lambda_{\text{max.}}$: 368 m μ .

Neben den Monoanilen entstanden immer in geringer Menge Anile, die sich in heißem Wasser nicht lösten und so von den Monoanilen getrennt werden konnten. Diese Anile entstanden auch aus umgelagertem L-Sorbose, D-Galactose und D-Erythrose, von denen keine Monoanile gefaßt werden konnten. Im UV-Spektrum zeigten diese Anile kein ausgesprochenes Absorptionsmaximum. Im IR-Spektrum war die Bande bei 3000 cm⁻¹ stark verbreitert, was auf eine starke Chelatisierung schließen läßt. Wahrscheinlich liegen in diesen Anilen Produkte vor, die durch Addition von weiteren Molekülen p-Aminobenzoesäure an die Carboxylgruppe des Monoanils entstanden sind.

Alle Anile gaben mit Pyridin/Methanol nach Zusatz von einem Tropfen Titan(III)-chloridlösung nach F. WEYGAND (13) nach dem Schütteln einen orangefarbenen Niederschlag.

Mit o-Nitranilin wurden mit umgelagertem D-Fructose Fällungen erhalten, die sich papierchromatographisch auf formamid-imprägnierten Papieren trennen ließen. Als mobile Phase eignet sich Nitrobenzol. Hierbei wurde nachgewiesen, daß ein Anil überwiegend entstand (neben zwei anderen). Kristalline Produkte konnten jedoch aus dem Gemisch nicht erhalten werden.

Literaturangaben:

- 1) G.HESSE u. Mitarb., Experientia XIII, Fasc. 1, 13 (1957)
- 2) H.v.EULER u. A.GLASER, Ark. Kemi 8, 61 (1955)
- 3) G.HESSE u. Mitarb., Ber.dtsch.chem.Ges. 89, 2143 (1956)
- 4) F.PETUELY, Monatshefte Chemie 83, 765 (1952)
- 5) E.FISCHER, Ber.dtsch.chem.Ges. 22, 89 (1889)
- 6) R.WEIDENHAGEN, Zeitschr.d.Wirtschaftsgr.Zuckerind. 87, 711 (1937)
- 7) O.SAMUELSON u. E.SJÖSTRÖM, Svensk Kem.Tidskr. 64, 150 (1952)
- 8) E.FISCHER u. E.ARMSTRONG, Ber.dtsch.chem.Ges. 35, 3141 (1902)
- 9) O.DIELS u. Mitarb., Liebigs Ann.Chemie 525, 94 (1936)
- 10) F.SMITH, Advances in Carbohydrate Chemistry, Vol.2, (1946)
- 11) E.HARDEGGER u. Mitarb., Helv.chim.Acta 35, 993 (1952)
- 12) W.L.EVANS u. Mitarb., J.Amer.chem.Soc. 50, 2267 (1928)
- 13) F.WEYGAND u. E.CSENDES, Ber.dtsch.chem.Ges. 85, 45 (1952)

LEBENS LAUF

Am 28. Januar 1928 wurde ich, Hans Christian Heid, in Roth bei Nürnberg als erstes Kind des Drechslers Albert Heid und dessen Ehefrau Luise, geb. Kempf geboren. Mit meinen Eltern fuhr ich 1930 nach Brooklyn/New York (USA) und besuchte dort von 1933 bis 1935 die Public School. 1935 fuhren meine Eltern mit mir nach Deutschland zurück, um den elterlichen Betrieb zu übernehmen. Ich besuchte dann in Roth die 3. und 4. Klasse der Volksschule. 1938 trat ich in die Oberschule Schwabach ein und 1943, durch die Kriegsverhältnisse bedingt, in die Oberschule Weißenburg in Bayern.

Im Januar 1944 wurde ich zum Luftwaffenhelferdienst eingezogen. Ab April 1945 war ich beim Reichsarbeitsdienst. Anfang Mai kam ich in amerikanische Gefangenschaft, aus der ich im August 1945 entlassen wurde.

Meine Ausbildung setzte ich dann an der Oberschule in Weißenburg fort. Dort legte ich im März 1947 die Reifeprüfung ab. Anschließend arbeitete ich im elterlichen Betrieb.

Im Herbst 1949 erhielt ich die Zulassung zum Studium der Chemie an der Universität Erlangen. Nach Ablegung des Diplom-Chemiker-Vorexamens im Januar 1953 ließ ich mich für das Wintersemester 1953/54 beurlauben. Während dieser Zeit und auch in den folgenden Semesterferien arbeitete ich in den Labors zweier Firmen. Am 13. Januar 1956 legte ich den mündlichen Teil des Diplom-Chemiker-Hauptexamens ab. Meine Diplomarbeit beendete ich im Frühjahr 1957. Im Anschluß daran fertigte ich vorliegende Arbeit an.

